

**Experimentelle Untersuchungen
über das Verhalten des Serum- und
Kotgesamtcholesterins
bei langfristiger Fütterung des
Kaninchens mit Cholesterin**

Heinrich Roetzer

Druck : Anneliese Schubert, München 5, Corneliusstraße 21, Telefon 221777



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DAS VERHALTEN DES SERUM- UND KOTGESAMTCHOLESTERINS
BEI LANGFRISTIGER FÜTTERUNG DES KANINCHENS
MIT CHOLESTERIN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Heinrich Roetzer

aus Postau bei Landshut

München 1959

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

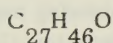
Referent: Dr. N. ZÖLLNER
Correferent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. K. KOLLE

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 6. 1959

CHOLESTERINSTOFFWECHSEL

Entdeckung und Chemie des Cholesterins

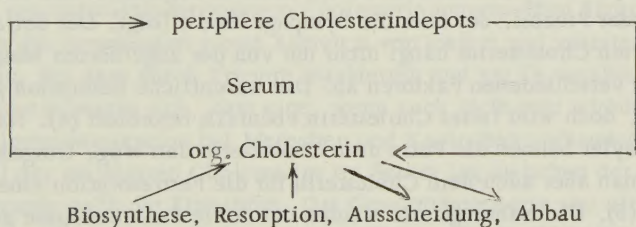
Das Cholesterin wurde gegen Ende des 18. Jahrhunderts von Conradi in Gallensteinen entdeckt. Seine chemische Formel lautet



Unlöslich in H_2O und Salzlösung. Etwas löslich in Seifenlösungen und Lösungen gallensaurer Alkalisalze, am besten in Fettlösungsmittel.

Das Cholesterin ist im tierischen und menschlichen Organismus ein weitverbreitetes Sterin. Es ist in allen Zellen und Säften des Menschen und der Säugetiere enthalten.

Der Cholesteringehalt des Organismus ist die Resultante aus vier Prozessen, die sich gegenseitig beeinflussen. In Benützung eines von Schettler (1) aufgestellten Systems lässt sich nachstehendes Schema des Cholesterinstoffwechsels entwerfen:



Biologie des Cholesterins

Der Tierkörper vermag Cholesterin zu synthetisieren. Die Bilanzversuche an verschiedenen Säugetieren und am Menschen führten zu dem Ergebnis, dass die Cholesterinausscheidung die Zufuhr übertrifft. Mit cholesterin-armer Kost gefütterte Tiere (Hunde) enthielten doppelt soviel Cholesterin als die Kontrolltiere, die 8 Tage nach der Geburt getötet wurden. Die Cholesterinmenge war 30 mal so gross als die mit der Nahrung aufgenommene Menge (2). Schönheimer (3) zeigte durch Bilanzversuche an legenden Hennen, dass die Gesamtmenge des Cholesterins in den Eiern durch Synthese entsteht.

Über das Ausgangsmaterial zur Cholesterinsynthese ist noch nicht Klarheit geschaffen. Der Ursprung des Cholesterins aus Acetat gilt als erwiesen und nur nahe verwandte Körper mit vier C-Atomen, wie Azetessigsäure und Aldol, können als Cholesterinsubstanzen auftreten (4). Unklar ist noch der lange synthetische Weg zu den vier Ringsystemen. Als Bildungsstätte gilt vornehmlich die Leber.

Resorption

Neben der Synthese findet auch Resorption von Cholesterin statt (21). Die Resorption des Cholesterins ist ein zeitlich begrenzter und langsam ablaufender Prozess, der über die Lymphgefässe erfolgt. Der Betrag des resorbierten Cholesterins hängt nicht nur von der zugeführten Menge, sondern von verschiedenen Faktoren ab. Die wesentliche Resorption geschieht als Ester, doch wird freies Cholesterin ebenfalls resorbiert (4). Nach Hoppe Seyler bahnen die Fette dem Cholesterin den Weg. Umgekehrt spricht man aber auch dem Cholesterin für die Fettresorption eine Bedeutung zu (5). Die Nahrungsfette werden durch die Pankreaslipase gespalten. Die freien Fettsäuren werden dann durch die Pankreascholesterinesterase mit dem im Darm befindlichen Cholesterin verestert und so resorbiert. Demnach muss für die Resorption einer bestimmten Fettmenge auch ein bestimmtes Cholesterinquantum vorhanden sein. In der Darmzelle kann dann der Ester durch das dort befindliche Ferment gespalten werden (5).

Ferner hat noch die Motorik des Darmes Einfluss auf die Cholesterinresorption. Pflanzliche Sterine werden von den Säugetieren und dem Menschen nicht resorbiert (21).

Cholesterin im Blut

Das resorbierte Cholesterin gelangt zunächst in das Blut. Dort kreist es in freier und veresterter Form. Die roten Blutkörperchen enthalten nur freies Cholesterin, im Serum sind rund zwei Drittel mit Fettsäuren verestert, ein Drittel ist unverestert. Cholesterin und seine Ester sind grösstenteils an die Serumeiweisskörper gebunden. Seit den Arbeiten von Benhold, Bendien und Snapper (5) weiss man, dass das Cholesterin mit dem Globulin Symplexe bildet. Nach elektrophoretischen Untersuchungen ergab sich, dass Cholesterin wie auch die meisten anderen Lipotide im Serum an die α - und β -Globuline gebunden sind. Blix, Tisdin und Svenson fanden im Durchschnitt im Albumin 1,07 % Cholesterin, im α -Globulin 4,45 %, im β -Globulin 8,65 % und im γ -Globulin 0,41 % (5).

Nach Untersuchungen von Sperry ist im menschlichen Blut ein Enzym enthalten, welches Cholesterin verestern kann. Der prozentuale Abfall des freien Cholesterins nach 24 stündiger Aufbewahrung diente als Massstab (22).

Mit Hilfe von radioaktivmarkiertem Cholesterin untersuchten Biggs und Friedmann die verschieden grosse Aktivität von freiem und verestertem Cholesterin. Bei dem durch Tritium markierten und per Os verabreichten Cholesterin zeigte sich, dass eine, wenn auch nicht sehr wirkungsvolle Cholesterinresorption bei Menschen und Kaninchen vorhanden ist. Der Gipfel des markierten Cholesterins im Serum lag zwischen der 36. und 72. Stunde nach der Einnahme. Das Gesamtcholesterin war nicht angestiegen, beim freien Cholesterin war die spezifische Aktivität grösser als beim veresterten. Beim Kaninchen zeigte sich gerade ein umgekehrtes Verhalten (23).

Gould und Mitarbeiter stellten mit radioaktivmarkierten Cholesterin bei Menschen fest, dass etwas verestertes Cholesterin aus dem freien entsteht. Die spezifische Aktivität des freien Cholesterins erreicht nach 2 - 4 Stunden ihr Maximum (24).

Die Höhe des Serumcholesteringehaltes ist beim Menschen und den Säugetieren verschieden und individuell bedingt, aber konstant. Im Hunger ist der Cholesterin- wie auch der Phosphorlipoidspiegel erhöht, wie Mc Millian und Mitarbeiter durch dementsprechende Versuche bei Kaninchen feststellen konnten (25).

Eine Vermehrung von Serumcholesterin kann in der Schwangerschaft festgestellt werden (26).

Beim Menschen liegt der Gehalt des Gesamtcholesterins bei 150 - 260 mg%, der des freien bei 35 - 90 mg% (6).

Im Serum von Kaninchen liegt der Gesamtcholesteringehalt bei 100 - 200 mg %, wobei das Verhältnis vom Freien zum Gesamtcholesterin 1 : 1,7 beträgt (4).

Lipaemie und Plasmaphosphatide

Die Verabreichung von Cholesterin und anderen Fetten ist von einer Lipaemie des Blutplasmas gefolgt. Es handelt sich um eine durch grob dispers verteilte Lipide, hervorgerufene Trübung des Plasmas. Bei der Beurteilung des Grades sichtbarer Lipaemie gilt die Faustregel, dass die Trübung der Erhöhung der Konzentration an Neutralfett parallel geht (27).

Schönheimer beobachtete 1924, dass die einmalige Zufuhr grosser Mengen von Fetten eine milchige Trübung im menschlichen Serum hervorruft, bei Kaninchenserum dagegen keine. Auch bei Cholesterin-Ölzufuhr blieb diese optische Lipaemie bei Kaninchen aus, trotzdem der Gehalt des Serums an Cholesterin schon nach einmaliger Eingabe anstieg (28).

Schönheimer beobachtete darüber weiter, dass erst nach mehrmaliger Zufuhr von Cholesterin - in Fetten gelöst - sich das Serum von Kaninchen trübt. Das Eintreten der Trübungszeit ist nicht nur abhängig von der jedesmal zugeführten Menge, sondern auch von der Beschaffenheit und Art des beigegebenen Fettes. Bei manchen Untersuchungen zeigte sich, dass bei den Tieren, die *Ol. arachidis* als Lösungsmittel erhielten, die Trübung später einsetzte, als bei denen, die mit *Ol. lini* gefüttert wurden. Sobald die Serumtrübung einsetzt, nimmt sie bei fortlaufender Fütterung stetig zu.

Verse konnte nachweisen, dass bei Zustandekommen einer Lipaemie bei Kaninchen nicht allein der Anstieg der Neutralfette im Blut genügt, sondern dass hierfür das Vorhandensein einer Cholesterinaemie nötig ist, die aber keine Serumtrübung hervorzurufen braucht (29).

Schönheimer erklärt die Lipaemie bei Kaninchen damit, dass durch den grossen Gehalt an Cholesterin die Blutlipase in irgendeiner Weise gebunden und zerstört wäre, und daher die zum Stoffwechsel notwendige Spaltung der Neutralfette im Blut aufgehalten oder gehindert würde (28).

Reicher war der erste, der bei der lipaemischen Trübung des Plasmas einen Zusammenhang mit den Phosphatiden entdeckte. Während der Fettresorption steigt nicht nur der Neutralfettgehalt des Blutes an, sondern auch der des Lecithins und des Cholesterins. Bei einem Anstieg des Blutfettes während der Fettresorption um 53 % nahm das Lecithin um 82 %, das Cholesterin um 66 % der normalen Werte zu (30).

Bloor spricht sowohl für den Umbau als auch für den Transport der Fette und Cholesterine im Organismus dem Lecithin erhöhte Bedeutung zu (31).

Eine weitere experimentelle Stütze fand die Annahme einer Transportfunktion des Lecithins in der Arbeit von Meigs und Mitarbeiter, die zeigten, dass die Menge des von der Milchdrüse erzeugten Neutralfettes gedeckt wird von der Differenz im Phosphatidgehalt des zu- und abströmenden Blutes, dass also anscheinend die Drüse das Material zur Fettbildung quantitativ aus dem Phosphatid des Blutes entnimmt (32).

Süllmann und Wilbrandt konnten bei Kaninchen durch Verfüttern von Fett feststellen, dass der Phosphatidgehalt der Darmlymphe der Kaninchen während der Fettresorption zunimmt. Diese Zunahme wird auf eine Phosphatidbildung in der Darmwand zurückgeführt (33).

Im Tierversuch beobachteten Polano und Mitarbeiter, dass es nach einem Cholesterin-Ölgemisch sowohl zu einem erhöhten Cholesterinspiegel wie Phosphorlipoidgehalt im Blut bei Vermehrung des Quotienten Cholesterinester/Phosphorlipide zugunsten der Cholesterine kam (34).

Gofmann und Mitarbeiter stellten mit Hilfe der Svedberg Ultrazentrifuge die Blutlipide von cholesteringefütterten Kaninchen und Menschen dar. Die Lipoidmoleküle stellen sich im Zentrifugalfeld entsprechend ihrer

Dichte in verschiedener Höhe vom Meniskus der Zelle ein und ihre Sedimentationsgeschwindigkeit kann durch Svedberg-Einheiten Sf charakterisiert werden. Gofmann teilt die Lipide, die aus Cholesterin und seinen Estern, Phosphorlipoiden, Fettsäuren und Eiweiss bestehen in folgende Gruppen ein:

Moleküle mit Sf-Werten von 3-8

Moleküle mit Sf-Werten von 10-20

Moleküle mit Sf-Werten von 30-70, sind Hauptbestandteile der alimentären Lipaemie

Moleküle mit Sf-Werten von 75-400. Hierher gehören die bei der Lipaemie auftretenden Chylomikronen (35, 15).

Zöllner schreibt über dds Verhalten der Plasmaphosphatide und Cholesterine folgendes: "Neutralfette sowie seine Cholesterin-Ester sind hydrophob Ihre feine Verteilung im phosphatidhaltigen Plasma wird vielleicht dadurch ermöglicht, dass sie im Phosphatidanteil der Lipoproteine in Lösung gehen. Für diese Rolle der Phosphorlipoide als Transporteure der Neutralfette und Cholesterine spricht, dass der Phosphatidspiegel sich normalerweise parallel zur Konzentration des Cholesterins bewegt (6).

Byers und Friedmann erklären die bei Kaninchen durch Cholesterinfütterung erzeugte Lipaemie und Trübung der Sera damit, dass das gesamte resorbierte Cholesterin im Blut in Form cholesterinreicher Chylomikronen eintritt. Die Chylomikronen verursachen im Blutplasma die Trübung. Mit den Lipoidträgern verschwinden sie wieder aus dem Plasma. Das Verschwinden der Chylomikronen aus dem Plasma wird nach Byers durch das R. E. S. der Leber bewerkstelligt und durch das Heparin (10, 36).

Nach Frazer (11) bestehen die Chylomikronen aus Neutralfett mit etwas Cholesterin und einer Globulinschicht an der Grenzfläche. Marder und Mitarbeiter (12) isolierten eine grössere Menge Chylomikronen als halbfeste Masse mit 80 - 85 % Neutralfett und 15 - 20 % Cholesterin.

Nach Boyd ist die Intensität der bei den lipaemischen Seren auftretenden, durch mikroskopische Fettröpfchen verursachten Trübung nicht nur vom Fettgehalt, sondern auch von der Menge der im Blutplasma enthaltenden Phosphatide abhängig (37). Auch sehr fettreiche Sera können klar erscheinen, wenn sie viel Phosphatide enthalten. Umgekehrt können Sera

mit wenig Fettgehalt durch Ausfallen der Fette opalescent erscheinen, wenn ihr Phosphatidgehalt gering ist. Man kann auch in einem fettarmen Serum eine lipaemische Trübung hervorrufen, wenn die im Plasma enthaltenden Phosphatide zerstört werden (38). Wahrscheinlich beruht die emulgierende Wirkung der Serumphosphatide auf der Bildung wasserlöslicher Phosphatid-Protein Komplexe. Diese bedecken in Form hydrophiler Protein-Phosphatid-Filme die Oberfläche der kolloidalen Fettpartikel und verhindern dadurch deren Entmischung (39).

Die Hauptmenge, der während der lipaemischen Trübung in das Blutplasma ausgeschütteten Phosphatide stammt aus der Leber, ein geringerer Teil aus dem Darmtrakt. Die Leber reagiert also auf eine alimentäre Lipaemie mit gesteigerter Phosphatbildung und Phosphatausscheidung ins Blut (40).

Die lipaemische Trübung der Sera nach Cholesterinzufuhr liegt nach Leipert (41) darin begründet, dass die Eiweisskörper und die damit verbundenen Phosphatide Ampholyte sind. Sie sind damit Säuren und Basen zugleich. Die Phosphatide und Eiweisskörper sind wasserlöslich, hydrophil, sie binden Wasser. Die Phosphatide sind jedoch auch noch lipophil, sie vermögen deshalb Fette und fettlösliche Stoffe aufzunehmen, ein wesentlicher Faktor, da Neutralfette apolar und ohne chemische Bindung sind. Zwei Drittel des Cholesterins verhalten sich ebenso, weil sie verestert sind. Der aktive Teil, der Neutralfett und Cholesterin an das Protein bindet, ist das Phosphatid. Nach Cholesterinbelastung wird das Plasma trüb, da nicht genügend Phosphatide zur Bindung vorhanden sind. Es besteht also ein Deficit der lipophilen Fraktion, die vermehrtes Cholesterin nicht mehr am hydrophilen Komplex verankern und seine Löslichkeit gewährleisten kann.

Die alimentäre Hypercholesterinaemie

Pribram hat als einer der ersten die Resorption von verfüttertem Cholesterin bei Kaninchen festgestellt. Nach Verfütterung von 3 gr Cholesterin wurde eine Vermehrung desselben im Blut und auch in der Darmwand beobachtet (7).

In der Folgezeit wurde auch beim Menschen und bei verschiedenen Säu-

getieren die Cholesterinverfütterung experimentiert, wobei sich bald Unterschiede im Verhalten der verschiedenen Versuchsobjekte gegenüber dem verfütterten Cholesterin herausstellten.

Schönheimer (8) berichtet darüber 1924:

"Kaninchen und Meerschweinchen reagieren auf fortgesetzte Zufuhr von Cholesterin in Fett gelöst in einer ganz langsam ansteigenden Hypercholesterinämie, die bei langer Versuchsdauer ausserordentliche Werte annehmen kann. Schon nach einigen Wochen zeigt sich im Serum eine Trübung und Lipämie. Zugleich entwickelt sich eine Ablagerung in den Organen und Gefässen. Demgegenüber verhalten sich der Mensch und die omnivoren Tiere anders. Nur unmittelbar nach der Cholesterinzufuhr ist die Lipämie im Serum sichtbar und verschwindet wenige Stunden danach bereits wieder. Der Cholesterinspiegel im Serum ist nur kurze Zeit erhöht, um schnell wieder abzufallen. Im Gegensatz zu den Kaninchen konnte bei den Omnivoren auch keine Ablagerung in den Gefässen oder Organen beobachtet werden. Schönheimer nimmt an, dass die schnelle Resorption und Ausscheidung des Cholesterins bei den Omnivoren daran schuld sei."

Schally schreibt 1936 über dasselbe Thema:

"Beim Herbivoren erreicht der Cholesterinwert nach einmaliger Verfütterung von Cholesterin im Serum 24 Stunden später seinen Höchstwert, um im Laufe der nächsten Tage wieder abzusinken. Durch reiche Cholesterinmast gelingt es bei den Herbivoren eine fixierte Hypercholesterinämie und Vermehrung in allen Organen zu erzielen. Kundson (7) konnte dagegen bei Fleischfressern, wie den Hunden, durch Versuche feststellen, dass 6 - 8 Stunden nach der Cholesterinaufnahme der höchste Gipfel der Cholesterinkurve erreicht ist. Insgesamt erstreckt sich beim Menschen der Ablauf der Cholesterinkurve nur auf 6 - 8 Stunden, beim Hund auf 24, und bei den Herbivoren auf Tage, vorausgesetzt, dass nur eine Cholesterinverabreichung stattfindet." Schally begründet diese Differenzen im Ablauf der Cholesterinkurve nach einmaliger Cholesteringabe wie Schönheimer mit einem unterschiedlichen Resorptions- und Regulationsvermögen der Herbivoren und Omnivoren.

Über das Verhalten des Serumcholesterins bei Herbivoren bei lang anhaltender Cholesterinverfütterung liegen Versuche von Rohrschneider (9) vor. Er führt seine Experimente an einer Serie von fünf reinrassigen Ka-

ninchen desselben Wurfes aus. Die Versuchsdauer erstreckt sich auf 210 Tage. Während dieser Zeit erhielten die Kaninchen täglich eine Cholesterindosis von 0,4 gr in 5 ccm Rüböl. Wie aus seinen Tabellen hervorgeht, verhielten sich die Tiere nicht gleichmässig gegenüber den eingeführten Cholesterinmengen. Trotz dieser Verschiedenheiten in der absoluten Cholesterinzahl des Blutserums, die seiner Ansicht nach Konstitutionell bedingt waren, machte sich doch ein bestimmtes Auf- und Absteigen in den Blutcholesterinwerten der Tiere untereinander bemerkbar. In den ersten 20 - 30 Tagen stieg der Cholesterinwert gleichmässig an und erreichte nach einer geringen Senkung etwa am 130. Tage übermässige Werte, welche bei einigen bis zum 50-fachen des Normalen stiegen, wenn der Cholesteringehalt des normalen Kaninchens 0,053 % betrug. Nach Erreichen des Höhepunktes fiel der Cholesterinwert innerhalb 140 Tagen ganz beträchtlich ab und blieb trotz weiterer Cholesterinfütterung verhältnismässig nieder. Paralell mit den Cholesterinwerten ging auch die Trübung und Lipämie der Seren. Beim Zurückgehen der Serumcholesterinwerte liess auch die Lipämie nach.

Rohrschneider führt den Abfall der Cholesterinwerte in der zweiten Versuchshälfte auf eine bessere Ausscheidung des Cholesterins und auf eine leichter vonstatten gehende Ablagerung in den Organen zurück. Diese Vermutung kann um so mehr unterstützt werden, als die Werte im Serum innerhalb kürzester Zeit nach dem Aufhören der Fütterung zur Norm abfallen. Damit würden sich die Herbivoren über eine längere Versuchsdauer der Cholesterinverfütterung hin nur mehr wenig von den Omnivoren unterscheiden, indem sie allmählich imstande sind, Cholesterin auszuscheiden.

Aufschlussreiche Ergebnisse über die Hypercholesterinämie bei Kaninchen haben Byers (10) und Mitarbeiter 1954 veröffentlicht. In mehreren Versuchsreihen stellte er das Verhalten der Hypercholesterinämie bei Kaninchen dem bei Ratten gegenüber. Es wurden 6 Kaninchen und ebensoviel Ratten mit Cholesterin gefüttert, und dann die Seren auf den Gesamtcholesteringehalt untersucht. Dabei zeigte sich, dass sich die Kaninchenserum in einigen Punkten von denen der Ratten unterscheiden. Während das Plasma der Kaninchen vor der Fütterung klar war und keine Chylomikronen enthielt, waren alle Cholesterinproben der Kaninchen 72 Stunden nach der Fütterung sehr trüb und zeigten unzählige Chylomikronen. Das Plasma der Ratten hatte sich jedoch so rasch von den Chylomikronen be-

freit, dass bereits nach 12 Stunden keine Chylomikronen mehr gefunden werden konnten.

Den Grund für diese unterschiedliche Hypercholesterinämie bei Ratte und Kaninchen sieht Byers nun zunächst darin, dass eventuell beim Kaninchen eine schnellere endogene Cholesterinsynthese als bei der Ratte vorliegen könnte. Dieses endogene Cholesterin, verbunden mit dem exogen verabreichten Cholesterin könnte zu einer Cholesterinanhäufung im Plasma führen und für die länger anhaltende Hypercholesterinämie beim Kaninchen ausschlaggebend sein.

Zur Klarlegung dieser Theorie wurden deshalb Versuche mit Triton WR 1339 angestellt, die die endogene Cholesterinsynthese beider Tiergattungen feststellen sollten. Dabei stellte sich aber heraus, dass die Ratte in derselben Zeiteinheit mehr endogen synthetisiertes Cholesterin ins Blut entlässt als das Kaninchen. Innerhalb von 24 Stunden stieg das Plasmacholesterin der Kaninchen um 444 % (von 56 - 288 mg/100 ccm) an und das der Ratten in derselben Zeiteinheit um 640 % (58 - 429 mg/100 ccm).

Im Gegensatz zu der von Byers aufgestellten Theorie ist es also die Ratte, die endogenes Cholesterin schneller synthetisiert als das Kaninchen. Diese Ergebnisse stimmen auch mit Angaben von Biggs und Kritchesky (10) überein, die die Halbwertszeit des in der Leber gebildeten Cholesterins mit 6 Tagen bei der Ratte und mit 10 - 20 Tagen beim Kaninchen angeben.

Da diese und andere Versuchsergebnisse von Byers und Mitarbeiter keine Klärung noch irgendeinen Unterschied im Plasma oder Serum in Bezug auf die längere Nahrungscholesterinretention bei beiden Tiergattungen zu entdecken vermochten, wandten die Forscher ihre Aufmerksamkeit der Leber direkt zu. Wie Byers in früheren Versuchen beweisen konnte, ist die Leber das verantwortliche Organ für die Beseitigung des hohen Cholesteringehalts im Blut. Nach Byers baut die Leber das aus dem Plasma stammende erhöhte Cholesterin ab, führt es allmählich in Cholsäure über und scheidet letzteres in die Galle aus.

Byers kommt daher zu folgendem Schluss:

Die verstärkte Hypercholesterinämie beim Kaninchen scheint erstens einmal darin zu bestehen, dass das Kaninchen eine grössere Menge des zugeführten Cholesterins resorbiert als die Ratte. Nach 72 Stunden be-

trägt die Resorption des aufgenommenen Cholesterins beim Kaninchen 72 % und bei der Ratte 46 %. Der wichtigste Grund besteht aber nach Byers in der eigentümlichen Unfähigkeit der Kaninchen, ihr Plasma vom Nahrungscholesterin zu befreien, wobei es ganz egal ist, ob jenes intestinal oder intravenös verabreicht wurde. Im Gegensatz zur Ratte scheint beim Kaninchen das exogene Cholesterin im Blut isoliert zu werden, wodurch aber der Eintritt desselben in die Leber, in der es abgebaut und dann ausgeschieden wird, verhindert wird. Die Leberparenchymzelle ist offenbar einer intravaskulären Retention des Steroids unfähig.

Neuere Forschungen, so berichtet Byers weiter, zeigen nun, dass das retikuloendotheliale System der Leber eine wichtige Rolle in der Anordnung des exogenen, nicht aber des endogenen Cholesterins spielt. Das exogene Cholesterin unterscheidet sich vom endogenen darin, dass es im Blut als ein unlösliches Inkrement der fettreichen Chylomikronen kreist. Diese Chylomikronen können wegen ihrer Grösse und Unlöslichkeit schwer das Blut verlassen, um in die Leberzellen einzutreten. Zu diesem Zweck müssen die Chylomikronen zuerst gespalten werden und durch einen klärenden Prozess oder eingewanderten Zellen (Phagozyten) im Plasma löslich gemacht werden. Die hepatischen Kupferzellen scheinen diese Aufgabe normalerweise zu haben. Byers führt an, dass ein vergleichendes Studium des R. E. S. des Kaninchen- und der Rattenleber ergeben habe, dass das R. E. S. der Kaninchenleber diese Fähigkeiten nicht oder nur wenig besitze, und darin der Grund für die Anhäufung von exogen verarbeiteter Cholesterin im Plasma zu sehen sei. Das R. E. S. ist nicht imstande, eine genügend grosse Anzahl von Chylomikronen aufzunehmen, um dann das darin enthaltende Cholesterin der Leberzelle weiterzugeben.

Ablagerung des Cholesterins

Steigende Zufuhr von Cholesterin führt, wie schon erwähnt, zu einer Ablagerung in den Gefässen und in den verschiedensten Organen. Windaus (13) hat 1910 gezeigt, dass die artherosklerotischen Veränderungen zum grossen Teil aus Cholesterin und seinen Estern bestehen. Bekannt sind die Versuche Anitschkows (14), der als erster erfolgreiche Gefässveränderungen bei Kaninchen und Meerschweinchen hervorrufen konnte. Bei sämt-

lichen Tieren, denen länger als 30 - 40 Tage Cholesterin gegeben wurde, war eine Atheromatose zu verzeichnen.

Mit Hilfe der Isotopentechnik liess sich nachweisen, dass Riesenmoleküle in den Plaques bei experimenteller Atheromatose abgelagert werden (16).

In den Organen erfolgt die Cholesterinablagerung vor allem in der Leber und den Nebennieren, auch auch in Lunge, Milz und wahrscheinlich noch in anderen Organen und Geweben. Grosse Mengen werden in der Subkutis abgelagert (5).

AUSSCHIEDUNG DES CHOLESTERINS

Das Cholesterin kann im menschlichen und tierischen Organismus verbraucht, umgewandelt und ausgeschieden werden. Der gesunde Organismus scheidet nur sehr geringe Mengen unveränderten Cholesterins aus. Der einzige wesentliche Weg der Ausscheidung führt über den Darm. Sehr gering ist die Ausscheidung bei intakter Nierenfunktion im Harn. Grössere Mengen werden wiederum durch die Haut ausgeschieden, täglich beim Menschen 0,108 - 0,216 gr. Die Tatsache, dass die Galle wesentliche Mengen Cholesterin enthält, wurde bislang als Erklärung für den Cholesteringehalt des Faeces angesehen und daraus der Ausscheidungsweg Galle-Darmtrakt abgeleitet. Nach Byers handelt es sich bei diesem Cholesterin mehr um ein sekretorisches als exkretorisches Leberprodukt. Lange Zeit galt somit die Leber als Hauptort der Cholesterinausscheidung.

Baumen und Hepner (1929) (17) und vor ihnen schon Sperry erkannten als eine der Ersten, dass das Cholesterin hauptsächlich durch die Darmwand und nicht durch die Leber ausgeschieden wird. Durch ihre Versuche an Hunden mit und ohne Gallenfisteln stellten sie ihre Ergebnisse über die Ausscheidung des Cholesterins auf.

Vergleich der Cholesterinausscheidung im Stuhl des Normal- und Gallenfistelhundes bei gleicher Ernährung. Es wurden 0,019 gr Cholesterin gegeben.

	Kotmenge	ausgesch. Chol. menge (tgl)
Normalhund:	48,0 gr	0,026 gr
Gallenfistelhund:	40,5 gr	0,106 gr

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Cholesterinausscheidung beim Gallenfistelhund vierfach so gross ist als beim Normalhund. Auf Grund ihrer Versuche kommen Beumer und Hepner zu folgenden Vorstellungen über den Ablauf des Cholesterinumlaufes: Die Hauptmasse des Cholesterins wird mit dem Kot ausgeschieden, dessen Cholesteringehalt abhängig ist

von der wechselnden exogenen Cholesterinzufuhr und der endogenen Abnutzungsquote. Das Kotcholesterin ist nicht identisch mit dem der Galle, da jenes grösstenteils wieder vom Darm resorbiert wird. Im Darm und vor allem im Dickdarm kommt das Cholesterin in Fett gelöst zur Ausscheidung. Von hier wird auch wieder ein Teil von der Galle zurückresorbiert. Bei fehlender Galle steigt dagegen die Menge des Kotcholesterins an und es entstehen dem Körper in dreifacher Hinsicht Cholesterinverluste: Nämlich Resorptionsbehinderung des Nahrungscholesterins, durch die abgeleitete Galle selbst, und durch die fehlende Rückresorption im Darm.

Weiterhin untersuchten Beumer und Hepner den Cholesteringehalt in den einzelnen Darmabschnitten beim Hund und Kaninchen. Während beim Kaninchen der Cholesteringehalt vom Duodenum bis zum Dickdarm leicht abfällt, steigt beim Hunde der Cholesteringehalt vom Duodenum zum Jejunum, fällt dann im Ileum etwas ab (Resorption), um dann im Colon wieder, noch stärker als in den ersten Darmabschnitten, rapide anzusteigen. Es bestehen also hierin beim Herbivoren andere Verhältnisse, als beim Omnivor, was auch in der unterschiedlichen Ausscheidung des gefütterten Cholestrins zum Ausdruck kommt. Der herbivore Organismus ist nicht imstande, eine grössere Masse aufgenommenen Cholesterins wieder glatt auszuschcheiden. Die erfolgreiche Imprägnierung durch Cholesterinmast bei Herbivoren könnte demnach vielleicht auf der geringen Exkretionsmöglichkeit durch den Darm beruhen, da vor allem im Dickdarm die Cholesterinausscheidung sehr gering zu sein scheint.

Wenn diese Unterschiede auch im Experiment zwischen Herbivor und Omnivor ziemlich gross erscheinen, so handelt es sich doch nur um quantitative Differenzen, denn auch der Herbivor entledigt sich nach Aufhören der Mast mit der Zeit seines angestauten Cholesterins und es scheint auch bei länger dauernder Cholesterinverfütterung die Exkretionsfähigkeit sich allmählich zu verbessern. Unterstützt wird diese Ansicht von Hepner durch Verse, der in der Dickdarmschleimhaut Cholesterin gespeicherter Kaninchen grössere Mengen Cholesterin gefunden hatte.

Bei der Ratte wird von der Dünndarmwand selbst siebenmal so viel Cholesterin abgesondert als durch die Galle in das Darmlumen gelangt. Kaninchen und Ratte geben in den Darm mehr Cholesterin ab, als sie bei der Fütterung erhalten (26).

Nach Immhäuser besteht das Cholesterin im Faeces im wesentlichen aus nicht resorbierter Substanz und dem Cholesterin, das aus der Darmwand ausgeschieden wird. Dazu kommen noch kleine Mengen Cholesterin aus der Galle, abgestossenen Darmepithelien und Darmbakterien (20).

Bugnard und Mitarbeiter experimentierten bei Tieren mit markiertem Cholesterin, um auf diese Weise die Menge des resorbierten markierten Cholesterins im Kot festzustellen und von dem übrigen Cholesterin im Organismus zu trennen. Bei Ratten ergab sich, dass 75 - 80 % resorbiert und 20 - 25 % ausgeschieden werden. Durch Organanalysen wurden 40 - 60 % des Cholesterins im Gewebe festgestellt. Die Differenz von 20 - 35 % gegenüber der Resorption erklären Bugnard und Mitarbeiter durch den Abbau des Cholesterins im Magen-Darmtrakt und in den Geweben (42).

Gegenüber der von Beumer und Hepner vertretenen Ansicht, dass die Cholesterinausscheidung vornehmlich im Colon stattfinden würde, machen Sperry und Angevine (18) den Dünndarm für die Cholesterinausscheidung verantwortlich.

Auch Byers und Friedmann (19) verlegen auf Grund eindeutiger Versuche die Cholesterinexkretion in den Dünndarm. Ratten wurde zum Teil das Colon entfernt. Nach der Colektomie war die Gesamtcholesterinausscheidung etwa gleich gross wie bei den Kontrolltieren. Die Cholesterinausscheidung war zwar etwas grösser, dafür aber die Ausscheidung von Nicht-Cholesterinen kleiner. Dies beruht nach Byers darauf, dass die Koprossterinbildung vorwiegend im Dickdarm lokalisiert ist. In weiteren Versuchen, in denen die Galle in verschiedene Darmabschnitte geleitet wurde, ergab sich, dass praktisch die gesamte Resorption von exogenen beigebrachten Cholesterinen im distalen Teil des Dünndarms stattfindet.

ZUSAMMENFASSUNG DER LITERATUR

Das Cholesterin ist ein wichtiger Bestandteil des Organismus. Man kann den Cholesterinstoffwechsel nicht getrennt beobachten, denn dafür ist er zu eng mit den Metabolismen anderer Körperbestandteile verbunden. Bei der Resorption benötigen die Fettsäuren das Cholesterin, und jenes umgekehrt wieder die Fettsäuren. Andererseits sind die Gallensäuren, Abbauprodukte des Cholesterins, wiederum notwendig zur Emulsion und Oberflächenvergrößerung der Fette bei der Verdauung.

Im Säugetierorganismus findet eine endogene Cholesterinsynthese statt. Hauptort ist die Leber. Als Anfangsbausteine zur Cholesterinsynthese dienen die Essigsäuren. Der weitere Verlauf der Synthese ist noch ungeklärt.

Im Blut kreist das Cholesterin in freier veresterter Form in Gesellschaft der Lipoproteine, vor allem der β -Globuline. Das Bindeglied zwischen den Lipoproteinen und dem Cholesterin sind die Phosphatide. Daraus erklärt sich das ähnliche Verhalten beider Lipide.

Die bei der Cholesterinverfütterung auftretende lipämische Trübung der Sera ist durch die Hypercholesterinäemie und dem Gehalt der Phosphorlipide abhängig. Die Phosphorlipoid-Protein Komplexe besitzen eine hydrophile und eine lipophile Gruppe, die für die Lösung der Cholesterine und Fette verantwortlich sind. Bei Verminderung des Quotienten Cholesterin/Phosphorlipide zu ungunsten der Phosphorlipide kommt es zu einer Trübung des Serums, da nicht alles Cholesterin in Lösung gehen kann.

Durch die Cholesterinverfütterung kommt es ferner im omnivoren und noch mehr im herbivoren Organismus zur Hypercholesterinaemie und zur Cholesterinablagerung in den Gefäßen und Organen.

Beim herbivoren Organismus ist die stärkere Hypercholesterinaemie und Ablagerung vor allem auf ein besseres Resorptionsvermögen und auf eine Fehlfunktion der Kupfer'schen Sternzellen zurückzuführen.

Die Cholesterinausscheidung, die in kleinen Mengen über die Galle, die Haut und durch den Harn, hauptsächlich aber über den Dünndarm erfolgt,

ist abhängig von der Anwesenheit der Galle. Bei der Cholesterinverabreichung scheiden die Herbivoren im Anfangsstadium weniger aus als die Omnivoren, worauf die erfolgreiche Cholesterinimprägnierung bei Kaninchen zurückgeführt wird. Bei längerer Cholesterinverfütterung steigt aber auch bei Kaninchen die Cholesterinexkretion an.

Unser Interesse ging nun dahin, zu erfahren, wie der Cholesteringehalt im Kot bei längerdauernder Cholesterinfütterung ansteigt und wie sich dazu gleichzeitig der Cholesterinspiegel im Serum verhält. Wie verhält sich die Lipäemie zum Cholesterinspiegel? Inwieweit lernen es die Kaninchen bestimmte aufgenommene Cholesterinmengen wieder ganz oder zum Teil auszuschcheiden? Wie verhält sich die Ablagerung zur Ausscheidung?

Um auf diese Fragen Antwort zu geben, stellten wir die Versuche wie folgt an.

VERSUCHSANORDNUNG

Bei dem vom 12. Juni bis 30. August dauernden Versuch setzten wir 18 Kaninchen jüngeren Alters ein, die wir in zwei Gruppen, eine Cholesterin- und eine Kontrollgruppe teilten. Die Cholesteringruppe mit 15 Kaninchen wurde täglich mit einem Gramm Cholesterin gefüttert, die Kontrollgruppe aus 3 Kaninchen bestehend erhielt kein Cholesterin. Jedes Tier hatte seinen eigenen Stoffwechselkäfig.

Während der ganzen Versuchsdauer wurde den Tieren wöchentlich Blut entnommen und der von ihnen wöchentlich ausgeschiedene Kot gesammelt. In den Blut- und Kotentnahmen bestimmten wir den Gehalt an Gesamtcholesterin. In den Blutproben beobachteten wir ferner noch die Lipaemie. Die Tiere wurden nach Ablauf des Versuches getötet und sezziert.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Das Cholesterin wurde den Kaninchen oral verabreicht. Es wurde ihnen täglich ein Kartoffelkloss gegeben, der aus 50 g gekochten und zerstampften Kartoffeln, 2 ccm Olivenöl (zwecks besserer Resorption) und ein Gramm Cholesterin bestand. Zur exakten Versuchsdurchführung erhielten auch die Kontrolltiere täglich einen Kartoffelkloss, dem aber kein Cholesterin beigemischt war. Ansonsten bekamen alle Tiere noch Grünfutter und Hafer. Die Kartoffelklöße wurden von den Tieren mit geringen Ausnahmen im Verlauf der ganzen Versuchszeit aufgenommen. Die nicht aufgenommenen Mengen wurden von der Bilanz abgezogen. Die Cholesterinfütterung begann am 12. Juni und endete jeweils an den Schlachttagen der Kaninchen.

Wöchentlich nahmen wir allen Tieren 1.5 ccm Blut aus einer Ohrvene ab. Dazu eigneten sich am besten die Randvenen, die am äusseren Rand der Ohren verliefen. Vor der Blutabnahme wurden die Ohren fest mit Xylol eingerieben, wodurch eine gute Blutfüllung der Venen zustande kam. Nach der Abnahme wurden die Blutproben sofort auf den Serumgesamtcholesteringehalt untersucht.

Die Lipaemie stellten wir makroskopisch im Serum fest. Je nach der Intensität der Trübung erfolgte die Einteilung der Lipaemie in verschiedene Grade:

o	- völlig klar
+	- leichte Opaleszens
+	- geringe Trübung
++	- starke Trübung
+++	- sehr starke Trübung mit beginnender Meniskusbildung
++++	- sehr starke Trübung mit freier Fettschicht auf dem Serum.

Wöchentlich erfolgte auch die Kotentnahme, wobei der gesamte in einer Woche ausgeschiedene Kot gesammelt wurde. Um Bakteriolyse und Cho-

lesterinverlust zu verhindern wurde der Kot sofort in einem Trockenofen bei 100 Grad C getrocknet. Dann konnte erst die Cholesterinbestimmung erfolgen.

Bei den Kontrollwerten führten wir wegen den stabilen Cholesterinwerten im Kot und Serum die Kotentnahme und die Blutentnahme nur in den ersten und letzten Wochen der Versuchszeit durch.

Nach Ablauf des Versuches wurden alle Kaninchen durch Nackenschlag getötet und dann seziiert. Bei der Sektion richteten wir unser besonderes Augenmerk zwecks pathologischen Veränderungen durch die Cholesterinfütterung auf Aorta, Nebennieren, Leber, Milz, Nieren und Augen. Soweit makroskopische Befunde in diesen Organen festgestellt werden konnten, zeichneten wir sie im Sektionsprotokoll auf.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

ZUR GESAMTCHOLESTERINBESTIMMUNG IM SERUM

Die Bestimmung des Cholesterins im Serum führten wir mit einigen Abweichungen nach dem Verfahren von Schönheimer-Sperry durch.

Der Grundgedanke des Verfahrens ist folgender:

Das Cholesterin wird durch Aceton-Alkohol extrahiert, das (Ester) Cholesterin durch Verseifung freigemacht, anschliessend alles Cholesterin mit Digitonin gefällt. Dann wird das Digitonin-Cholesterin isoliert und mit Essigsäure-Anhydrid und Schwefelsäure die Liebermann-Bergkhardt'sche Farbreaktion erzeugt und photometrisch bestimmt.

Reagentien:

Aceton-Alkohol 1 : 1 (96 %iger Alkohol mit Benzin vergällt)

Digitoninlösung 1000 mg (100 ccm 50 %iger Alkohol)

10 %ige Essigsäure

Aceton - Aether 1 : 2

50 %ige Kalilauge

Phenolphthaleinlösung

Eisessig (Acid. acetic. glaciale)

Essigsäure - Anhydrid

Schwefelsäure p. p. A. D = 1,84.

Extraktion:

Nach Zentrifugieren des Blutes werden von dem jeweiligen Serum 0.5 ccm aus einer Spezialpipette in einen 15 ccm Messkolben, der zur Hälfte mit einer Mischung von Aceton-Alkohol aufgefüllt ist, langsam und tropfenweise hineinpipettiert. Zur besseren Eiweissfällung kurz im Wasserbade sieden lassen und nach Abkühlen auf Marke 15 mit Aceton-Alkohol auffüllen. Dann wird durch ein Hartfilter (Schleicher und Schüll 605 h) filtriert.

Verfahren:

Von dem Filtrat werden in je zwei Gläser (Doppelbestimmung) 3 ccm pi-

pettiert. Zu den 3 ccm des Filtrats werden 4 - 5 Tropfen 50 %ige KOH gegeben und mit einem an den Enden abgeplatteten Glasstab innig vermischt. Die Gläser werden dann mit den Stäben für 30 Minuten bei 37 Grad C im Wasserbad inkubiert. Danach wird auf 6 ccm mit Aceton-Alkohol verdünnt. Überschüssiges Alkali wird durch 20 %ige Essigsäure mit Phenolphthalein als Indikator neutralisiert. Dazu einen Tropfen Essigsäure im Überschuss geben, da eine komplette Cholesterinfällung mit Digitonin nur im leicht sauren Milieu stattfinden kann.

Hierauf wird mit Digitonin gefällt: 1/2 ccm Digitoninlösung pro ccm Untersuchungslösung. Zur völligen Ausfällung bleiben die Gläser über Nacht stehen. Der an der Wand der Gläser haftende Niederschlag wird am nächsten Morgen mit den Glasstäben, die während der Fällungszeit in eine nummerierte Aufhängevorrichtung gesteckt werden, abgelöst. Die Gläser werden dann nach Entfernung des Glasstabes 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird mit einer feinen Kapillare an der Wasserstrahlpumpe bis auf etwa 1 cm abgesaugt. Man gibt nun in jedes Glas zwecks Herauswaschens des Wassers 5 ccm Aceton-Äther, wirbelt fest auf und zentrifugiert wieder. Nach erneutem Absaugen wiederholt sich der ganze Vorgang durch Hinzugabe von Analysenäther. Die letzten Ätherreste verdampft man mit einer Verdampfungskapillare an der Wasserstrahlpumpe.

Farbreaktion:

Der völlig trockene Rückstand wird in 2 ccm Eisessig unter Erwärmung auf 60 Grad C gelöst. Nach kurzem Abkühlen auf Zimmertemperatur werden in jedes Glas eine Mischung von 2 ccm Essigsäure-Anhydrid und 0,1 ccm Schwefelsäure im Abstand einer Minute gegeben und mit den Glasstäben gerührt, bis keine Schlieren mehr zu erkennen sind. Dann kommen die Gläser für genau eine Stunde in die Dunkelkammer. Nach Ablauf der Stunde wird im Photometer bei Filter 578 gegen einen Nullwert minütlich abgelesen. Der erhaltene Extinktionwert wird auf der Eichkurve eingetragen und der Cholesterin - mg - Wert pro Probe abgelesen.

Das Gesamtcholesterin pro Serumprobe berechnet sich in mg% nach folgender Formel:

$$\text{mg\%} = \text{mg} \cdot 1000$$

Da die Eichkurve infolge der wechselnden Luftfeuchtigkeit grösseren Schwankungen unterworfen ist, muss sie bei jeder Untersuchung neu aufgestellt werden. Zu diesem Zweck pipettiert man von einer Stammlösung (0.5 mg Cholesterin/1 ccm Eisessig) je zweimal (Doppelbestimmung) 1 ccm (= 1/2 mg Cholesterin) und 2 ccm (1 mg Cholesterin) in vier Reagenzgläser. Diese Eichwerte werden nach Hinzugabe von 2 ccm Eisessig wie die übrigen Untersuchungslösungen weiter behandelt und dann gegen einen Nullwert (2 ccm Eisessig, keine Stammlösung) abgelesen. Aus den so erhaltenen Extinktionswerten in der Ordinate und den schon bekannten Cholesterinwerten (1/2 mg und 1 mg) auf der Abszisse ergibt sich die Eichkurve.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

ZUR GESAMTCHOLESTERINBESTIMMUNG IM KOT

Das Gesamtcholesterin im Kot bestimmten wir nach dem Phil'schen Verfahren:

Der wöchentlich gesammelte Kot wird in einem elektrischen Trockenofen getrocknet (mindestens 10 Stunden). Nach Mahlen des Kotes mittels einer Mühle wiegt man 1 g in einen Schliffkolben von 250 ccm ab. Nach Zugabe von 25 ccm 10 %iger alkoholischer Kalilauge wird die ganze Lösung zwei Stunden lang in einem Wasserbad bei 80° C gekocht und damit verseift.

Hierauf quantitativ die Lösung in einen Scheidetrichter von 250 ccm überführen, und mit 5 ccm Äthylalkohol einmal und mit 50 ccm Aqua dest. in mehreren Portionen den Rundkolben nachspülen. Dann werden zur Extraktion des Cholesterins 50 ccm Äther hinzugegeben, die Scheidetrichter ein bis zwei Minuten lang unter wiederholtem Lüften fest geschüttelt und der Äther nach klarem Absetzen in den Rundkolben abgesaugt. Dieser Extraktionsvorgang wiederholt sich noch dreimal. Die Ätherauszüge werden in die gereinigten Scheidetrichter zurücküberführt und zwecks Herauswaschens der Kalilauge viermal mit je 50 ccm Aqua dest. gewaschen. Dabei wieder Schütteln, Absetzen lassen wie oben, abgesetztes Wasser ablaufen lassen und verwerfen. Die so gewaschenen Ätherauszüge führt man mit Hilfe von 5 ccm Äthylalkohol in den Schliffkolben zurück, verdampft den Inhalt im Vakuum auf 5 - 10 ccm und filtriert ihn unter wiederholtem Nachspülen des Kolbens mit Aceton-Spiritus in einem 50 ccm Messkolben.

Aus dem bis zur Marke 50 aufgefüllten Messkolben werden in 2 Reagenzgläser je 3 ccm pipettiert. Dazu einen Tropfen Essigsäure und mit Digitonin fällen.

Von hier ab geht dann die Bestimmung, wie beim Serum schon beschrieben, auf dieselbe Art und Weise fort.

Den Cholesteringehalt in einem Gramm Kot berechnet man durch Multiplizieren des Cholesteringehaltes pro Probe mit 16,7. Der Cholesteringehalt der gesamten wöchentlichen Kotmenge ergibt sich aus Kotgewicht x mg/g.

SEKTIONSERGEBNISSE

1. Bei den Kaninchen, die mit Cholesterin gefüttert wurden:

Bei sämtlichen Tieren waren die Organe, Augen, Aorta, Milz, Nieren und Nebennieren stark verändert.

An allen Augen konnte ein Arcus lipoides schwächeren oder stärkeren Ausmasses festgestellt werden.

Die Leber der Tiere zeigte im allgemeinen eine Vergrösserung. Die Oberfläche war glatt spiegelnd, bisweilen von griessartigem Aussehen.

Die Farbe entsprach nie der einer normalen Leber, sondern zeichnete sich durch eine lehmige oder hellgraue Färbung aus. Die Konsistenz erschien härter als normal.

Die Milzorgane waren in 30 % der Fälle vergrössert. Sonst o.B.

Die Nieren zeigten ausser seltenen Lipoidablagerungen keine Veränderungen.

Die Nebennieren waren bis zu 80 % mehr oder minder stark vergrössert.

Jede Aorta wies in ihrem Anfangsteil Atherome auf. Sie wurden auf einer eigenen Tabelle aufgezeichnet.

2. Bei den Kontrolltieren:

Die Sektionsbefunde entsprachen hier durchaus der Norm und zeigten keine Besonderheiten.

T A B E L L E I

Gibt die durch wöchentliche Analyse erhaltenen Cholesterinwerte der Sera in mg% an.

(Nr. = Kaninchen, Lip = Lipaemische Trübung im Serum).

	Tage	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	75	Mittel
Nr. 1	mg% Lip	360 o	207 o	161 o	168 o	170 o	170 o	168 o	190 o	215 o	406 o	482 o	245 o
Nr. 2	mg% Lip	300 +	162 o	430 +	615 +	358 +	520 +	285 +	513 o	321 +	370 +	400 o	389
Nr. 3	mg% Lip	335 +	620 +	765 +	875 +								649
Nr. 4	mg% Lip	502 +	372 +	638 +	623 o	730 ++	522 +	535 +	716 +	582 o	275 o	475 o	543
Nr. 5	mg% Lip	570 +	560 +	612 +	745 +	698 +	365 o	305 +	716 +	677 o	640 o	640 o	593
Nr. 6	mg% Lip	540 +	545 ++	934 ++	1237 +++	918 +++	775 +	796 +	1035 +	972 +	735 +	805 ++	845
Nr. 7	mg% Lip	690 ++	818 +++	1100 ++	1060 ++	825 ++	1140 +++	1245 +++	1675 +++	1950 +++	1544 +++	1760 +++	1255
Nr. 8	mg% Lip	617 +	1230 +++	1218 ++	1460 +++	1050 +++	690 +	480 +	552 +	450 +	520 +	410 +	789
Nr. 9	mg% Lip	600 +	495 +	410 o	380 o	582 +	562 +	554 +	625 +	635 +	642 o	455 +	540
Nr. 10	mg% Lip	750 ++	720 +++	812 +	1110 ++	1169 ++	1170 +++	1200 ++	865 ++	1320 ++	1180 +++	1225 +++	1047
Nr. 11	mg% Lip	600 +	457 +	471 o	430 o	360 o	364 o	400 +	800 ++	718 +	505 o	385 o	500
Nr. 12	mg% Lip	300 o	346 o	325 +	364 o	370 o	505 +	645 +	795 +	929 +	1002 +	785 +	579
Nr. 13	mg% Lip	495 o	698 +	762 +	775 +	435 o	264 o	301 +	377 o	370 o	238 o	300 o	456
Nr. 14	mg% Lip	645 +	900 ++	1260 +	228 o	1042 ++	1245 +++	1225 +++	1690 +++	1500 +++	1265 ++	800 +	1073
Nr. 15	mg% Lip	562 ++	652 ++	1028 ++	1125 ++	1180 ++	580 +	368 +	486 +	737 +	768 +	- +	749
Nr. 16	mg% Lip	173 o	162 o	151 o	165 o	160 o	168 o	- -	- -	- -	160 o	170 o	164
Nr. 17	mg% Lip	170 o	160 o	- -	165 o	160 o	168 o	- -	- -	- -	161 o	170 o	165
Nr. 18	mg% Lip	210	192	210	202	195	205	-	-	-	190	200	200

TABLE II

Gibt die durch wöchentliche Analyse erhaltenen Kotcholesterinwerte an.

(kg = Gewicht des wöchentlich ausgeschiedenen Kotes in Gramm, mg/g = Cholesterin in 1 g Kot)

ges. mg = Cholesterin in wöchentlichem Kotgesamtwicht).

	Tage	8	15	22	29	36	43	50	57	64	71	74	Mitte
Nr. 1	kg		26	49	52	60	52	75	85	76			
	mg/g	/	24,9	18,0	28,5	37,0	48,3	33,7	37,2	34,8	/	/	
	ges. mg		895	882	1482	2220	2512	2527	3116	2645			2035
Nr. 2	kg		36	64	69	69	71	98	95	92	88	70	
	mg/g	/	10,3	13,7	35,8	30,2	23,2	24,1	35,0	40,0	36,5	36,6	
	ges. mg		371	877	2470	2084	1647	2362	3325	3680	3240	2520	2258
Nr. 3	kg			85	46								
	mg/g	/	16,7	21,2	29,8								
Nr. 3	ges. mg			1802	1371								
	kg		40	61	63	68	81	59	73	60	58	46	
Nr. 4	mg/g	11,2	18,0	31,7	28,0	25,9	27,6	33,7	45,0	52,7	41,5	37,6	
	ges. mg		720	1934	1764	1761	2203	1988	3285	3162	2821	1730	2137
	kg		46	58	54	71	89	99	121	108	114	64	
Nr. 5	mg/g	/	20,0	21,4	22,9	23,5	25,4	21,1	37,0	33,3	32,9	37,6	
	ges. mg		920	1241	1242	1668	2260	2088	4477	3596	3750	2406	2365
Nr. 6	kg		50	54	56	58	60	73	76	64	85	52	
	mg/g	/	13,6	18,9	28,0	28,2	30,0	25,0	47,2	37,0	32,9	32,2	
Nr. 6	ges. mg		680	1021	1768	1635	1800	1825	3587	2368	2795	1674	1915
	kg		53	65	74	85	96	100	104	104	110	65	
Nr. 7	mg/g	/	15,7	29,3	37,5	33,6	23,0	22,7	38,8	51,7	41,7	43,0	
	ges. mg		832	1904	2775	2856	2282	2270	4035	5377	4585	2795	2970
	kg		41	64	43	50	41	57	72	68	64	52	
Nr. 8	mg/g	18,8	16,6	24,2	34,8	34,9	40,0	36,8	52,8	43,7	35,6	32,2	
	ges. mg		681	1549	1496	1745	1640	2097	3802	2972	2275	1674	1993
Nr. 9	kg		30	65	47	60	86	85	84	81	77	57	
	mg/g	/	18,6	16,7	21,9	21,1	18,7	17,9	21,6	34,7	25,4	19,3	
Nr. 9	ges. mg		558	1085	1229	1266	1589	1522	1804	2811	1952	1100	1492
	kg			35	17	41	60	69	93	62	34	30	
Nr. 10	mg/g	/	/	26,3	52,7	51,5	52,4	42,0	43,2	58,8	64,8	51,2	
	ges. mg			920	896	2111	3144	2900	4018	3646	2198	1536	2363
	kg		49	53	61	70	67	77	69	63	50	38	
Nr. 11	mg/g	11,6	15,8	16,7	25,6	23,7	24,4	28,2	42,7	47,2	38,5	38,7	
	ges. mg		774	885	1562	1659	1634	2171	2946	2974	1925	1471	1800
Nr. 12	kg		36	65	42	65	59	75	72	51	80	40	
	mg/g	15,1	13,4	7,7	16,5	19,4	20,9	20,1	36,4	49,0	43,5	35,0	
Nr. 12	ges. mg		482	550	693	1261	1233	1507	2621	2499	3475	1400	1572
	kg		42	78	54	70	66	66	73	65	70	43	
Nr. 13	mg/g	/	21,7	27,3	27,9	31,5	34,6	25,0	52,8	56,5	45,6	49,7	
	ges. mg		911	2129	1507	2205	2284	1650	3854	3672	3191	2980	2438
Nr. 14	kg		38	38	32	45	39	55	59	48	45	28	
	mg/g	16,4	20,6	25,0	47,0	46,7	48,0	44,2	58,8	58,8	55,8	53,8	
Nr. 14	ges. mg		783	950	1504	2101	1875	2431	3469	2822	2511	1506	1995
	kg		38	41	39	30	52	47	30		/		
Nr. 15	mg/g	10,9	18,0	17,2	17,4	17,0	15,8	12,2	16,4	/	/		
	ges. mg		684	705	679	510	822	573	492				639
Nr. 16	kg		37	61	37		/	/	/	/	84	55	
	mg/g	/	3,4	3,3	3,4	/	/	/	/	/	3,6	3,8	
Nr. 16	ges. mg		128	204	126						302	209	194
	kg		43	43	35	51	/	/	/	/	78	45	
Nr. 17	mg/g	/	3,5	3,2	3,4	3,9	/	/	/	/	3,6	4,1	
	ges. mg		150	140	120	199					280	184	179
Nr. 18	kg		42	65	51	80	/	/	/	/	81	57	
	mg/g	/	3,8	3,3	3,7	3,6	/	/	/	/	3,8	3,7	
Nr. 18	ges. mg		161	216	187	286					307	211	228

Zeigt an, wieviel Gramm Cholesterin an jedes Kaninchen verfüttert wurde, wieviel davon aufgenommen, ausgeschieden und resorbiert wurde. Letzte Spalte gibt die atheromatösen Plaques in der Aorta nach ihrer Ausdehnung an.

Nr.	Tage	verfüttertes Cholesterin	aufgenommenes Cholesterin	ausschiedenes Cholesterin	resorbiertes Cholesterin	Atherome der Aorta
1	64	53	53	16,3	36,7	+
2	75	68	65	22,6	42,4	+
3	29	28	28	-	-	-
4	75	68	68	21,4	46,6	+
5	75	68	67	23,6	43,3	++
6	75	68	68	19,2	48,8	++
7	75	68	68	29,7	38,3	++++
8	75	68	68	19,9	48,1	+
9	75	68	61	14,9	46,1	+++
10	75	68	67	21,4	45,6	+
11	75	68	67	18,8	49,0	++
12	75	68	60	15,7	44,3	+++
13	75	68	68	24,4	43,6	++
14	75	68	68	20,0	48,0	++++
15	57	50	42	4,5	37,5	+
16	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-

Kontrolliere

Zeichenerklärung der Atheromatose der Aorta:

++++ sehr starke atheromatöse Veränderungen im Ascudens-Arcus-Desundensteil der Aorta
 +++ mittel starke " " " " " " " " " "
 ++ mässige " " " " " " " " " "
 + geringe atheromatöse Veränderungen nur im Ascendens- und Arcusteil der Aorta

DISKUSSION

Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, dass die Cholesterinverfütterung bei allen Kaninchen zu einer Vermehrung des Cholesterins im Blut und Kot geführt hat. Bei den Kontrolltieren betragen die Serumwerte rund 170 mg%, bei den Cholesterintieren jedoch sind die Werte um ein vielfaches gestiegen, wobei der höchst erreichte Wert bei 1950 mg% liegt.

Die Höhe und der Anstieg des Cholesterinspiegels ist bei den jeweiligen Kaninchen sehr verschieden. Der Cholesterinspiegel nimmt nicht konstant von Woche zu Woche zu, wie man es gemäss der Cholesterinzufuhr erwarten möchte, sondern er ist grösseren und kleineren Schwankungen unterworfen, indem er bald ansteigt und bald etwas sinkt. Verhältnismässig hoch scheinen die Werte im Vergleich zur Zufuhr nach der ersten Woche, wobei der niedrigste Wert 300 und der grösste 770 mg% beträgt. So unterschiedlich und individuell bedingt sich auch die Serumcholesterinverhalten, lassen sie sich doch bei allen Tieren in zwei Abschnitte einteilen. Einen allgemeinen Höhepunkt nach der 3., 4. und 5. Woche, wobei die wöchentlichen Mittel bei 700 mg% liegen und die Einzelwerte bis 1460 mg% emporklettern. Einen zweiten Höhepunkt in der 8. und 9. Versuchswoche mit einem Mittel von 800 mg% und dem höchsten Einzelwert von 1950 mg%.

Regelmässiger als die Cholesterinwerte im Serum verhalten sich im Versuchsverlauf die Werte im Kot, die in mg/g und ges. mg bestimmt wurden. Beide Wertformen verhalten sich durchschnittlich parallel, die mg/g Werte jedoch steigen konstanter an, da sie nicht wie die ges. mg von der wöchentlichen Kotschwankungsmenge abhängig sind. Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, dass die Cholesterinausscheidung von Woche zu Woche im Steigen begriffen ist. Gering ist noch die Ausscheidung in der ersten und zweiten Woche.

Die Ausscheidung beträgt in der ersten Woche 10 - 18 mg%, am Versuchsende bis über 50 mg%, und 4 - 5 ges. gr. Bei einer wöchentlichen

Cholesterinaufnahme von 6 g hatten die Kaninchen somit weit über die Hälfte wieder ausgeschieden. Wie die Serum-, so lassen auch die Kotwerte aller Kaninchen in ihrem Verlauf eine gewisse Regelmässigkeit erkennen. Alle Einzelwerte zeigen nach rund vier Wochen einen gewissen Höhepunkt, fallen dann meist etwas ab und erreichen in der 8. und 9. Woche einen weiteren Gipfel.

Inwieweit sich die Kotwerte und Serumwerte untereinander unterscheiden geht besonders deutlich aus den wöchentlichen Mittel der Kot- und Serumergebnisse hervor. Hierbei verlaufen die Mittel beiderseits vor allem in der zweiten Versuchshälfte ziemlich parallel im Anstieg. In der ersten Versuchshälfte ist nur in den ersten vier Wochen ein gemeinsames Ansteigen zu verzeichnen.

In Übereinstimmung mit anderen Experimenten seien zum Vergleich die Ergebnisse ähnlicher Versuche von zwei Amerikanern (43) aufgeführt. Bei Fütterung von käuflicher Dauernahrung und 16,6 % Olivenöl und 1,66 % Cholesterin je Tag und Kilo erhielten Kaninchen 0,6 g Cholesterin. Diese Versuche dauerten 30 Tage lang. Die nach Ablauf der Versuche erfolgte Kotanalyse ergab eine Resorption von 82 % und das Serumgesamtcholesterin betrug 1500 mg% (Kontrolltiere 150 mg%).

Bei unseren Versuchen liegen die Serumcholesterinwerte nach 4 Wochen bei 1460 mg%, die Kotausscheidung beträgt rund 16 %. - Für die gesamte Versuchsdauer ergibt sich folgende Bilanz: Bei allen Kaninchen wurden durchschnittlich 30 % Cholesterin ausgeschieden und 70 % resorbiert. Nur ein Kaninchen liegt mit 43 % an Ausscheidung über dem Durchschnitt.

Das allgemeine Ansteigen der Serumcholesterine bis zur 4. Woche und die darauf folgende kleine Abnahme geht auch aus den Versuchen von Rohrschneider hervor, der angibt, dass in den ersten 20 - 30 Tagen der Cholesterinspiegel im Serum zunimmt und dann etwas wieder absinkt.

Die individuellen Schwankungen im Cholesterinspiegel sind nach Rohrschneider konstitutionell bedingt. Eine weitere Rolle spielen Gewicht, Alter, endogene Cholesterinsynthese und Abbau in andere Stoffe. Je nach dem individuellen Stoffwechselgeschehen ist ein schneller oder langsamer Abtransport des exogenen Cholesterins möglich. Das vorübergehende Abfallen der Cholesterinwerte im Serum kann man darauf zurückführen,

dass die Kaninchen schneller das Cholesterin aus dem Blut zu entfernen gelernt haben.

Die hohe Cholesterinämie in den ersten Wochen ist vorallem durch die geringe Ausscheidung im Kot bedingt. Die geringe Cholesterinausscheidung kann von der totalen Cholesterinresorption abhängen, so dass kein Cholesterin zur Ausscheidung gelangen kann. Inwieweit das Ausscheidungscholesterin von nicht resorbierten und von dem aus der Darmwand ausgeschiedenen besteht, kann aus unseren Versuchen nicht entnommen werden.

Trotz der langen Versuchsdauer wurde von den Kaninchen niemals die wöchentlich verabreichte Cholesterinmenge nur annähernd wieder ausgeschieden. Das kann in erster Linie darin begründet sein, dass die Tiere immer noch Cholesterin ablagern konnten. Zum Teil wird aber auch das aufgenommene Cholesterin vom Organismus in andere Substanzen umgebaut, so dass es der Bilanz entgeht. Ausserdem sind die Kaninchen Koprophagen.

Was die lipämische Trübung der Sera betrifft, so geht sie trotz kleineren und grösseren Schwankungen ziemlich parallel mit dem Anstieg des Cholesterinspiegels. Keine sichtbare Lipaemie ist bei den Kontrollwerten vorhanden. Die unterste Lipaemiegrenze liegt bei den einzelnen Sera bei 300 - 600 mg% Cholesteringehalt. Da die lipaemische Trübung der Sera nur makroskopisch festgestellt wurde, können die Schwankungen durch das individuelle Urteil teilweise verursacht sein. Die Übergänge sind nicht immer klar zu unterscheiden. Zum Teil kann aber auch eine Änderung im Phosphorlipoidspiegel jederzeit die Lipaemie abschwächen oder verstärken. Eine Rolle spielen wahrscheinlich auch noch die abgenommenen Blutmengen, die jeweils nicht immer gleich gross waren (Aderlasslipaemie).

Um diese Fehlerquellen auszuschliessen, müsste man in künftigen Versuchen die Phosphorlipide mitbestimmen.

ZUSAMMENFASSUNG

Zusammengefasst geht aus dem Versuch hervor:

Die Cholesterinverfütterung führt bei Kaninchen zu einer Hypercholesterinaemie, zu einer vermehrten Cholesterinausscheidung im Kot und zu einer lipaemischen Trübung der Sera. Die lipaemische Trübung nimmt mit dem Cholesteringehalt im Serum zu. Die Kotausscheidung steigt gemäss der langen Cholesteringabe an. Von keinem Tier wurde die wöchentliche verabreichte Cholesterinmenge wieder total ausgeschieden. Viel Cholesterin wurde in den Organen abgelagert. Kot- und Serumcholesterin verlaufen beinahe parallel im Anstieg.

Um exaktere Ergebnisse und Aussagen bei einer solchen Versuchsreihe aufstellen zu können, wäre es notwendig, das Cholesterin mit Hilfe von Magensonden den Tieren zu geben und parallel zu Cholesterin- den Phosphorlipoidgehalt zu bestimmen. In Bezug auf die Ausscheidung des Cholesterins im Kot wäre bei einer längeren Versuchsdauer wahrscheinlich zu erreichen, dass die Cholesterinresorption der Ausscheidung gleichkäme.

LITERATURANGABE

1. Schettler, G.: D. m. W. 989, 1953
2. Kühnau, J.: Handb. biochem. Ergebn. W 3, 1936
3. Schönheimer, R.: H. 185, 119, 1929
4. Flaschenträger, B.: Lehrb. d. physiol. Chemie 2, 200, 1956
5. Schettler, G.: Erg. inn. Med. NE, 3299, 1952
6. Zöllner, N.: Thannhausers Lehrb. d. Stoffwechsels u. -krankh. 581, 1957
7. Schally, A.: Ergebn. inn. Med. 50, 480, 1936
8. Schönheimer, R.: Biochem. Z. 147, 258, 1924
9. Rohrschneider, W.: Virchows Arch. 256, 1925
10. Byers, S. O. und Friedmann, M.:
Amer. J. Physiol. 179, 201, 1954
11. Frazer, A. C. und Mitarbeiter:
J. Physiol. 95, 68, 1949
12. Marder, L. und Mitarbeiter:
Gastroenterology 20, 43, 1952
13. Windaus, A.: Z. phys. Chem. 67, 174, 1910
14. Anitschkow, N.: Beitr. path. Anat. u. allg. Path. 56, 379,
191
15. Gofmann, J. W.: Science 111, 166, 1950
16. Leipert, T.: Wien. med. W. 103, 655, 1953
17. Beumer, H. und Hepner, F.:
Z. exper. Med. 64, 787, 1929

18. Sperry, W.M. und Mitarbeiter:
J. biol. Chem. 96, 769, 1932
19. Byers, S.O. und Mitarbeiter:
Amer. J. Physiol. 175, 375
20. Immhäuser, K.: Klin. W. 1, 1930
21. Schonheimer, R.: H. 180, 1 u. 19, 1929
22. Turner, K.B.: J. Clin. Invest. 32, 801, 1953
23. Biggs, M.W. und Friedmann, M.:
Circulation 6, 359, 1952
24. Gould, R.G. und Mitarbeiter:
J. Laborat. Clin. Med. S. Louis 46, 372,
1956
25. Mc. Millian, G.C., Whiteside, J.H., Duff, G.L.:
J. Exper. Med. 99, 261, 1954
26. Peters, J. und Mitarbeiter:
J. Clin. Invest. 30, 388, 1951
27. Zöllner, N.: Naturwissensch. 39, 111, 1952
28. Schönheimer, R.: Virchows Arch. 249, 1, 1929
29. Verse, M.: Beitr. pathol. Anat. u. allg. Pathol. 63,
1917

Verse, M.: Münch. med. W. 30, 1916
30. Reicher, J.: Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 28, 327,
1911
31. Bloor, W.R.: J. of biol. Chem. 24, 447, 1916
32. Meias und Mitarbeiter: J. of biol. Chem. 37, 1, 1919
33. Süllmann, H. und Wilbrandt, W.:
B.Z. 270, 52, 1934
34. Polano, M.K. und Smeller, H.A.:
Invest. Dermat. Baltimore 22, 447, 1954

35. Gofmann, J.W. und Mitarbeiter:
Circulation 2, 161, 1951
Circulation 4, 29, 1951
Circulation 4, 25, 1951
36. Byers, S.O. und Friedmann, M. :
Annual. Rev. Biochem. Vol. 25, 613, 1956
37. Boyd, E.M.: Trans. R. Soc. Canada (V) (3) 31, 11, 1937
38. Ahrens, E.H. jr. and Kunkel H.G. :
J. exper. Med. 90, 409, 1949
39. Macheboeuf, M. : Les Cenappes, lipoproteidques Expos. ann.
Biochem. med. 5, 71, 1945
40. Heresy, G.: Nature 140, 275, 1937
41. Leipert, T.: Acta Neurovegetat. 4, 1955
42. Bugnard, L., Chevalier, F., Coursaget, J. :
J. physiol. 45, 413, 1953
43. Cook, R.P. und Thomsow, R.O. :
Biochem. J. 44, 1949

Zum Schluss möchte ich noch Herrn Dr. N. ZÖLLNER für die Überlassung der Arbeit und die Übernahme des Referates danken. Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. D. FRINGS für die liebenswürdige Beratung bei der Ausführung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 24. August 1934 als Sohn des prakt. Arztes Dr. J. Roetzer in Postau bei Landshut geboren. Nach fünf Jahren Volksschule besuchte ich das hum. Gymnasium in Metten. Hier absolvierte ich im Sommer 1953. Noch in demselben Jahr fing ich mein medizinisches Studium an der Universität München an. Im Frühjahr 1956 legte ich hier meine ärztliche Vorprüfung ab. Im 6. und 7. Semester studierte ich an der Universität Freiburg. Die folgenden Semester studierte ich wieder in München. Mein Staatsexamen legte ich im Frühjahr 1959 ab.

